OMAGGIO

R. ISTITUTO SUPERIORE AGRARIO DI PISA

LABORATORI DI PATOLOGIA VEGETALE
E DI BATTERIOLOGIA AGRARIA
R. OSSERVATORIO REGIONALE DI FITOPATOLOGIA

IMPERIAL BUREAU OF MYCOLOGY
11 JULY 1935
INSTITUTE

106

G. LUCHETTI E T. NANNI

SU DI ALCUNI FERMENTI DEL FORMAGGIO E SULLE VARIAZIONI DA ESSI INDOTTE NELLA COMPOSIZIONE DEL LATTE

Estratto dai *Nuovi Annali dell' Agricoltura*

1935 - XIII

Dott. GIOVANNI LUCHETTI e Dott. TEMISTOCLE NANNI

Su di alcuni fermenti del formaggio e sulle variazioni da essi indotte nella composizione del latte

Estratto dai **Nuovi Annali dell'Agricoltura**
Editi dal Ministero dell'Agricoltura e delle Foreste
Anno XV - 1935

ROMA
ISTITUTO POLIGRAFICO DELLO STATO
LIBRERIA
1935 - XIII

Dott. GIOVANNI LUCHETTI e Dott. TEMISTOCLE NANNI

Su di alcuni fermenti del formaggio e sulle variazioni da essi indotte nella composizione del latte

Estratto dai **Nuovi Annali dell'Agricoltura**
Editi dal Ministero dell'Agricoltura e delle Foreste
Anno XV - 1935

ROMA
ISTITUTO POLIGRAFICO DELLO STATO
LIBRERIA

1935 - XIII

Tipografia Operaia Romana — Via Emilio Morosini, 17 — Roma, 1935-XIII

Dott. GIOVANNI LUCHETTI e Dott. TEMISTOCLE NANNI

SU DI ALCUNI FERMENTI DEL FORMAGGIO E SULLE VARIAZIONI DA ESSI INDOTTE NELLA COMPOSIZIONE DEL LATTE

Ormai è noto, dalle numerose ricerche in proposito, come i Saccaromiceti siano quasi costantemente presenti non solo nel latte ma anche nei formaggi. Particolarmente Sacchetti, in questi ultimi tempi, ha rivolto l'attenzione alla ricerca di lieviti in alcuni formaggi italiani (1) segnalando e descrivendo specie in parte note e in parte nuove, sporigene ed asporigene, attive e non attive verso il lattosio e di esse studiando la resistenza di fronte all'acido lattico, al cloruro sodico e alla temperatura.

L'interesse di tali ricerche nei particolari riguardi dei processi di caseificazione ci ha indotto a seguire tale argomento sopratutto soffermandoci nello studio delle modificazioni chimiche indotte nel latte da alcune specie di lieviti.

In una prima Nota già uno di noi ha dato comunicazione (2) del comportamento, nel latte, di *Sacch. cerevisiae* e *Sacch. ellipsoideus*;

(1) SACCHETTI M., *Contributo alla conoscenza della flora microbica di alcuni formaggi italiani.* I e II. Arch. f. Mikr., vol. 3, pag. 650, 1932, e vol. 4, pag. 427, 1933.

(2) LUCHETTI G., *Trasformazioni determinate nella composizione del latte dai Sacch. cerevisiae ed ellipsoideus.* Nuovi Annali dell'Agricoltura, anno XIV, pag. 179, 1934.

a quella dell'azoto organico, comunque è notevole ed evidente, mentre è nota, d'altra parte, la inassimilabilità dei nitrati da parte della gran maggioranza di *Saccharomyces*.

Le colonie giganti sono lucide, delimitate da una breve serie di anelli concentrici non molto rilevati verso la periferia ; al centro sono

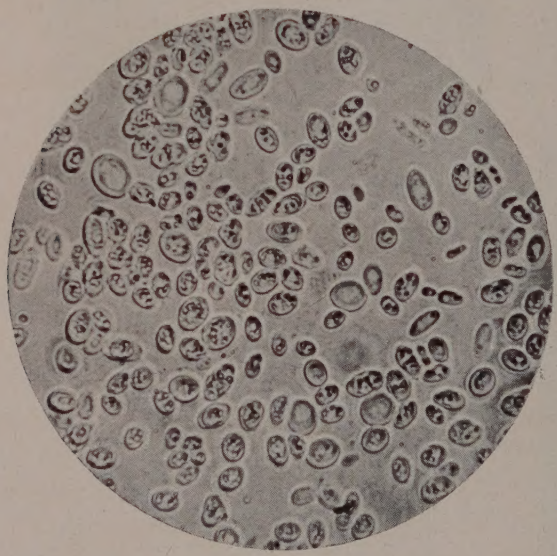

Fig. 4. — *Saccharomyces caseiculus* Luchetti e Nanni.
Ingrand. 1200 d. circa.

piatte, gli orli leggermente ondulati e solcati, in qualche punto, trasversalmente.

Per quanto si riferisce alla posizione sistematica questo ceppo non ci sembra identificabile con nessuno dei ceppi descritti per quanto qualche carattere lo avvicini a *Sacch. Mangini* Guill. e, più esattamente, alla var. *casei* Sacchetti che pertanto fermenta il galattosio, non coagula il latte ed utilizza l'alcool etilico. Perciò ci sembra lecito, per il momento, di distinguerlo dalle altre specie con il nome di *Sacch. caseiculus* n. sp.

Blastodendrion casei n. sp.

Su agar-fagiuoli cellule ovali od ellittiche riunite in catenelle di diversi elementi talvolta ramificate ed arborescenti, con protoplasma granuloso e, nelle vecchie colture, fortemente vacuolizzato. Misurano in media μ 4-4,95 $\times$ 8,25 ma si hanno anche cellule più grandi o più allungate di μ 8,25 $\times$ 13,2, μ 4,95 $\times$ 14,85, μ 6,6 $\times$ 11,55. Mancano filamenti pseudomicelici.

Su agar Gorodkowa e su blocchetti di gesso non si formano endospore.

Le colonie su piastra sono superficiali, circolari, bianche, poltacee, opache, a margini frangiati per formazione di vegetazioni arborescenti. Negli strisci si ha patina continua con caratteri analoghi.

Nelle colture liquide sviluppa bene depositando al fondo, senza formazione di anello o velo superficiale.

Nel latte sviluppa coagulandolo finemente senza separazione di siero.

Nelle infissioni in gelatina sviluppa in superficie senza fluidi - care.

Fermenta glucosio, levulosio, saccarosio, galattosio, mannosio ; non fermenta lattosio, maltosio, arabinosio, raffinosio, xilosio, mannite.

Assimila tutti gli zuccheri di cui sopra e la glicerina ; non assimila mannite ed alcool etilico. Assimila l'azoto proteico ed amidico (asparagina) e, sebbene non abbondantemente, i nitrati ed i sali ammonici.

Le colonie giganti sono lucide, estese, bianche, opache, piatte al centro, delimitate circolarmente da un anello che segue i contorni. I bordi sono degradanti e più o meno ondulati.

La specie rientra, per la mancanza di endospore ed il tipico modo di accrescimento, nelle *Torulopsidaceae Mycotoruleae* e precisamente nel genere *Blastodendrion* Ota. Comparativamente alle specie descritte il nostro ceppo, nell'insieme dei suoi caratteri più che ad ogni altro

Fig. 5.

Fig. 6.

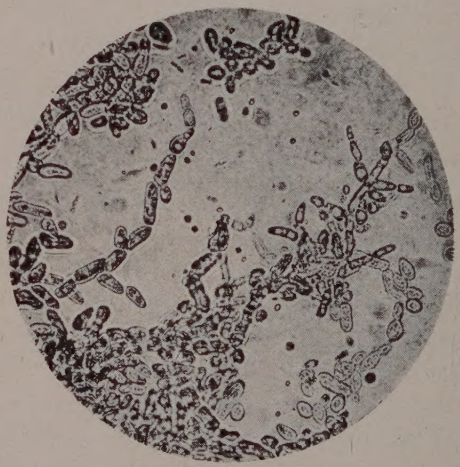

Fig. 7.

Blastodendrion casei Luchetti e Nanni.

Fig. 5. — Colonia gigante.
Fig. 6. — Striscio su agar-fagiuoli.
Fig. 7. — Microfotografia della forma: ingrand. 600 d. circa.

si avvicina al *Blastodendrion intermedium* Cif. et Ashf. (1). Tuttavia da questo differisce per i caratteri morfologici, per la mancata fermentazione del maltosio ed inoltre per il comportamento di fronte ai nitrati. Perciò lo teniamo distinto nella nuova specie: *Blastodendrion casei* n. p.

II. — Azione dei fermenti studiati sulla composizione chimica del latte

Con la tecnica già descritta da uno di noi in una precedente Nota (2) si fecero agire su latte i fermenti descritti ed il *Geotrichum javanense* Ver., e si analizzò il latte prima dell'inoculazione ed al 5°, 10° e 15° giorno dall'inoculazione stessa.

Riportiamo nelle Tabelle I, II, III, i risultati ottenuti da dette analisi, esprimendone i valori, eccettuato il grado di acidità, in grammi per litro di latte.

Tabella I

Analisi eseguite su latte fermentato con Saccharomyces caseiculus n. sp.

N.	RICERCA	Iniziale	5° giorno	10° giorno	12° giorno
1 *a*	Grado di acidità	8,000	24,336	37,440	43,040
1 *b*	Acidità totale (in acido lattico)	1,800	5,479	8,424	9,634
2	Grasso	29,500	29,500	29,000	26,500
3	Zucchero totale (lattosio)	34,050	34,050	33,950	33,540
4	Sostanze azotate totali	30,736	30,201	30,008	29,549
5	Caseina	18,570	18,141	12,278	9,500
6	Albumina	12,166	—	—	—
7	Estratto secco	125,576	125,120	123,000	102,600
8	Ceneri	7,522	7,528	7,572	7,500
9	Alcool etilico	—	—	—	2,750
10	Ammoniaca	—	—	—	0,400
11	Acidità volatile (in acido acetico)	—	—	—	4,541
12	Acidità fissa (in acido lattico)	—	—	—	2,873
14	Glicerina	—	—	—	tr.
15	Aldeide etilica	—	—	—	tr.
16	Acido formico	—	—	—	—
17	Acido acetico	—	—	—	tr.

(1) Ciferri R. e Ashford B. K., *A new species of Blastodendrion*. The Porto Rico Journ. of Publ. Healt a. Trop. Med., vol. 5, pag. 91, 1929.

(2) Luchetti G., Loco citato.

TABELLA II

Analisi eseguite su latte fermentato con Blastodendrion casei n. sp.

N.	RICERCA	Iniziale	5° giorno	10° giorno	15° giorno
1 *a*	Grado di acidità	8,000	24,683	56,160	62,720
1 *b*	Acidità totale (in acido lattico)	1,800	5,555	12,636	14,112
2	Grasso	29,500	29,000	23,500	28,500
3	Zucchero totale (lattosio)	34,050	34,000	33,920	33,740
4	Sostanze azotate totali	30,736	30,639	30,673	28,962
5	Caseina	18,570	17,640	16,859	13.960
6	Albumina	12,166	—	—	—
7	Estratto secco	125,576	126,690	133,270	115,440
8	Ceneri	7,522	7,540	7,556	7,540
9	Alcool etilico	—	—	—	0,250
10	Ammoniaca	—	—	—	0,430
11	Acidità volatile (in acido acetico)	—	—	—	0,240
12	Acidità fissa (in acido lattico)	—	—	—	13,752
14	Glicerina	—	—	—	tr.
15	Aldeide etilica	—	—	—	tr. marc.
16	Acido formico	—	—	—	tr.
17	Acido acetico	—	—	—	tr.

TABELLA III

Analisi eseguite su latte fermentato con Geotrichum javanense Ver.

N.	RICERCA	Iniziale	5° giorno	10° giorno	15° giorno
1 *a*	Grado di acidità	8,000	25,392	26,320	28,100
1 *b*	Acidità totale (in acido lattico)	1,800	5,707	5,922	6,322
2	Grasso	29,500	26,500	26,500	25,500
3	Zucchero totale	34,050	34,050	33,960	32,740
4	Sostanze azotate totali	30,736	30,730	30,726	30,275
5	Caseina	18,570	18,055	17,542	16,943
6	Albumina	12,166	—	—	—
7	Estratto secco	125,576	123,496	129,732	127,400
8	Ceneri	7,522	7,660	7,520	7,320
9	Alcool etilico	—	—	—	3,150
10	Ammoniaca	—	—	—	1,250
11	Acidità volatile (in acido acetico)	—	—	—	2,873
12	Acidità fissa (in acido lattico)	—	—	—	2,013
14	Glicerina	—	—	—	tr.
15	Aldeide etilica	—	—	—	tr. marc.
16	Acido formico	—	—	—	tr. marc.
17	Acido acetico	—	—	—	tr.

Come nel precedente lavoro sullo stesso argomento, anche in questo si fece la ricerca n. 13 relativa alla curva di distillazione della acidità volatile, per vedere quali acidi prevalessero nella formazione di detta acidità. I valori ottenuti sono riportati nella seguente :

TABELLA IV

Curva di distillazione degli acidi volatili del latte fermentato con:

Porzione di distillato	SACCHAROMYCES CASEICULUS		BLASTODENDRION CASEI		GEOTRICHUM JAVANENSE	
	% della acidità volatile totale					
	Parziale	Progressiva	Parziale	Progressiva	Parziale	Progressiva
1	17 –	17 –	7 –	7 –	16,1	16,1
2	15,5	32,5	7,5	14,5	15,5	31,6
3	14,1	46,6	8,5	23 –	13,9	45,5
4	12,6	59,2	10 –	33 –	12,5	58 –
5	10,8	70 –	10 –	43 –	10,7	68,7
6	9,3	79,3	10 –	53 –	9,2	77,9
7	7,9	87,2	10 –	63 –	7,9	85,8
8	5,2	92,4	10 –	73 –	6,3	92,1
9	4,6	97 –	12 –	85 –	4,8	96,9
10	3 –	100 –	15 –	100 –	3,1	100 –

Dai valori di quest'ultima tabella si può rilevare che si è in presenza di due principali miscugli di acidi volatili : uno formato prevalentemente da acidi con curva convessa verso l'alto, l'altro con curva convessa verso il basso.

Il miscuglio del primo tipo si ritrova nel latte fermentato con *Saccharomyces caseiculus* e con *Geotrichum javanense* e corrisponde quasi esattamente, a meno di un piccolo scarto, nel suo comportamento nella distillazione, all'acido butirrico, di cui ha la stessa curva. Indizio evidente che i due microrganismi suddetti producono, fra gli acidi volatili, prevalentemente acido butirrico. Il piccolo scarto che si verifica può esser dovuto sia ad imperfezione dei metodi di indagine o, meglio, a poca precisione per le esigue quantità su cui si opera, sia a minime quantità di altri acidi presenti nel latte fermentato.

Il miscuglio del secondo tipo corrisponde come curva all'acido acetico più che ad ogni altro e si è riscontrato nel latte fermentato con *Blastodendrion casei*.

III. — Conclusioni.

Dalla prima parte delle nostre esperienze si è potuto constatare che i formaggi contengono alcuni lieviti, come già è stato da altri dimostrato; che, almeno in parte, essi sono caratteristici per ogni formaggio, tanto che in tipi diversi di esso si rinvengono fermenti diversi alcuni dei quali non ancora descritti. Noi, da formaggio « Bel Paese » abbiamo potuto isolare e descrivere due specie di fermenti, sporigeno l'uno, asporigeno l'altro, che per le loro caratteristiche morfo-fisiologiche riteniamo nuove e come tali le indichiamo con i, nomi di *Saccharomyces caseicolus* n. sp. e *Blastodendrion casei* n. sp.

In una seconda parte dello studio abbiamo cimentato il latte con le specie suddette ed altra isolata da Verona da una bevanda acido-alcoolica dell'isola di Giava: il *Geotrichum javanense* Ver., ottenendo le conclusioni di cui in appresso.

I. — Tutti i fermenti cimentati si sviluppano, con maggiore o minore rapidità, nel latte, coagulandolo a temperatura di 24°-25° C., fra il 5 ed il 10 giorno, alcuni (*Sacch. caseiculus* e *Blast. casei*) con coagulo finissimo, altri (*Geotr. javanense*) con coagulo più grossolano, i primi senza separazione di siero, il secondo con separazione di siero.

II. – I suddetti lieviti acidificano il latte in diverso grado, alcuni molto fortemente (*Blastodendrion*), altri meno (*Saccharomyces* e *Geotrichum*), producendo questi ultimi forti quantità di acidi volatili, minori quantità il primo.

Per quel che riguarda la produzione di acidità è anche interessante vedere i rapporti tra acidità fissa e volatile prodotta dai singoli fermenti.

	Saccharomyces	*Blastodendrion*	*Geotrichum*
Acidità fissa	29,6 %	97,4 %	31,8 %
Acidità volatile.	70,4 %	2,6 %	68,2 %

L'acidità della tabella precedente è, per comodità di raffronto ridotta a percentuale della acidità totale.

III. – Tutti i lieviti si dimostrarono capaci di attaccare il grasso del latte ; più di ogni altro il *Geotrichum* che ne consumò al 15° giorno oltre il 13 %.

IV. – Lo zucchero fu pochissimo attaccato da detti fermenti, come del resto era prevedibile per il fatto che, pur assimilandolo tutti, nessuno di essi fermenta il lattosio.

V. – Le sostanze azotate totali del latte subirono, per opera di tutti i fermenti una leggera diminuzione dovuta forse a decomposizione delle proteine fino allo stadio ultimo di ammoniaca di cui una parte può essere volatilizzata nella permanenza dei recipienti contenenti il latte in termostato a 24°-25° C.

VI. – La caseina subì una forte diminuzione, specie ad opera del *Saccharomyces caseiculus* che al 15° giorno ne aveva consumata quasi il 50 %, meno ad opera del *Blastodendrion casei* che ne aveva consumata circa il 25 % e meno ancora per il *Geotrichum javanense* che ne consumò appena l'1,8 % circa.

VII. – Riguardo al consumo di albumina non abbiamo dati cui riferirci in quanto il forte consumo di caseina non permette di calcolarla per differenza dalle proteine totali e non la ricercammo altrimenti nel latte fermentato.

VIII. – Circa le ceneri e l'estratto secco i risultati non sono gran che netti e concordi perchè, come uno di noi fece notare altrove (1) non è possibile di prelevare campioni medi da latte fermentato e coagulato, specie quando vi è separazione di siero. Del resto non vi è ragione perchè, ad esempio, le ceneri debbano variare con la semplice fermentazione ; se pure qualche variazione può esservi nella percentuale di estratto secco.

IX. – L'alcool etilico fu trovato costantemente fra i prodotti di fermentazione : in quantità piuttosto rilevanti per il *Geotrichum*, e per il *Saccharomyces*, minori per il *Blastodendrion* : rispettivamente 0,375 – 0,250 – 0,025 %.

---

(1) LUCHETTI G., Loco citato.

X. – Il *Geotrichum* si mostrò molto più attivo degli altri anche nella produzione di ammoniaca che risultò per questo lievito circa tre volte superiore che non per gli altri due.

XI. – Tutti i fermenti produssero glicerina, forse dalla saponificazione dei grassi.

XII. – Trovammo aldeide etilica in tutti e tre i campioni di latte fermentato, in quantità minori in quello fermentato con *Saccharomyces caseiculus*.

XIII. – L'acido formico non era presente nel latte fermentato con *Saccharomyces* ma era presente negli altri ed in maggior quantità in quello fermentato con *Geotrichum*.

XIV. – L'acido acetico è un prodotto comune ai tre fermenti, ma la reazione qualitativa da noi usata non ci permise di stabilire con sicurezza una scala di valori, sia pure approssimata come potemmo fare per l'aldeide etilica.

XV. – Il latte fermentato con *Saccharomyces* aveva odore e sapore di formaggio, molto spiccati; quello con *Blastodendrion* non ne rivelava che il sapore mentre il *Geotrichum* non impartì al latte alcun carattere organolettico spiccato, sibbene un miscuglio di odori e sapori indefinibili.

Prima di chiudere questa breve Nota rivolgiamo il nostro vivo ringraziamento al prof. Verona che ci fu di valido aiuto specie nella parte sistematica del lavoro.

Laboratorio di Batteriologia del R. Istituto Superiore Agrario di Pisa.

ROMA - TIP. OPERAIA ROMANA

VIA EMILIO MOROSINI N. 17

:: :: 1935 - ANNO XIII :: :